

r1



MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉCONOMIQUES

N° 882.541

Classif. Internat.:

A61K

Mis en lecture le:

16-07-1980

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention:

Vu le procès-verbal dressé le 31 mars 1978 à 14 h. 40
au Service de la Propriété industrielle;

ARRÊTE :

Article 1. — Il est délivré à : L'association à but scientifique dite :
INSTITUT INTERNATIONAL DE PATHOLOGIE CELLULAIRE ET
MOLECULAIRE,
75, avenue Hippocrate à Bruxelles,
repr. par le Cabinet Bede à Bruxelles,

un brevet d'invention pour : Nouvelles formes pharmaceutiques,
leur préparation et les compositions qui les contiennent,

Article 2. — Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeure joint un des doubles de la spécification de l'invention (mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 15 avril 1978

PAR DELEGATION SPECIALE :

Le Directeur

L. SALPETEUR

Inventor: Dubois, et al.
Serial No.: 09/879,442
Docket No. COUL-015/02US
F2

L' Association à but scientifique dite :
INSTITUT INTERNATIONAL DE PATHOLOGIE CELLULAIRE ET
MOLECULAIRE

à Bruxelles (Belgique)

Nouvelles formes pharmaceutiques, leur préparation et les
compositions qui les contiennent.

La présente invention concerne de nouvelles formes pharmaceutiques d'un principe actif, leur préparation et les compositions qui les contiennent.

Un médicament ou une drogue, pour exercer son effet, doit pouvoir pénétrer dans la cellule appropriée appelée cellule cible. Généralement cette pénétration s'effectue par diffusion du médicament ou de la drogue à travers la paroi cellulaire. Dans ces conditions, il s'établit un équilibre entre la concentration du principe actif dans la cellule et la concentration dans le milieu extérieur. Par ailleurs, le médicament ne pénètre pas toujours sélectivement dans les cellules cibles sur lesquelles il doit agir et, par son action sur les cellules saines, le médicament peut exercer des effets secondaires néfastes qui peuvent nuire à son utilité.

Un autre mode de pénétration intracellulaire est basé sur un mécanisme endocytaire au cours duquel les macromolécules sont incluses dans des vacuoles formées par l'invagination de la membrane cellulaire avant de fusionner avec les lysosomes.

Ce mécanisme endocytaire dont la prépondérance dépend du type cellulaire peut être utilisé en thérapeutique pour augmenter la sélectivité des agents thérapeutiques vis-à-vis des cellules susceptibles de ce mécanisme.

Pour que l'agent thérapeutique ait une taille suffisante pour participer à ce mécanisme endocytaire, il est possible de lier le principe actif à une macromolécule,

telle qu'une protéine, qui sera désignée sous le nom de vecteur. Pour que le médicament puisse exercer en totalité ou en partie ses effets, il est nécessaire qu'il soit libéré à l'intérieur ou au voisinage immédiat de la cellule cible. En d'autres termes, la combinaison principe actif-vecteur ou drogue-vecteur doit répondre aux trois critères suivants :

- 1) être stable dans la circulation sanguine avant d'atteindre les cellules cibles,
- 2) être dissociée ou scindée dans les cellules cibles ou dans leur voisinage immédiat,
- 3) être capable de régénérer la drogue sous sa forme active.

Pour que le premier de ces critères soit satisfait, il est nécessaire que le lien entre la drogue et le vecteur soit de nature covalente, et que ce lien covalent résiste aux hydrolases présentes dans le sérum.

La combinaison drogue-vecteur pénétrant dans les cellules cibles par un mécanisme essentiellement endocytaire, il est nécessaire de tenir compte des propriétés des lysosomes pour satisfaire au second critère. En effet, le lien entre la drogue et le vecteur peut être coupé soit chimiquement en milieu acide soit enzymatiquement au moyen des hydrolases acides des lysosomes. Mais encore faut-il, compte tenu du troisième critère, que la drogue soit libérée sous sa forme active. Il a été constaté qu'un tel résultat ne peut pas être obtenu si le principe actif est lié directement à la macromolécule.

9

Il a été trouvé, et c'est ce qui fait l'objet de la présente invention, qu'on peut obtenir un médicament qui possède les caractéristiques désirées, si on intercale un lien temporaire désigné par le terme "bras", entre la drogue et le vecteur.

La présente invention concerne les nouvelles formes pharmaceutiques d'un principe actif qui peuvent être schématiquement représentées par :

Vecteur - Bras - Drogue (1)

leur procédé de préparation et les compositions qui les contiennent.

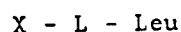
Selon l'invention, la "drogue" est constituée par un principe actif qui agit intracellulairement et qui contient dans sa molécule une fonction amine libre. A titre d'exemples de drogues à fonction amine libre peuvent être citées des anthracyclines ayant une activité antitumorale, telles que la daunorubicine ou la doxorubicine, ou des quinoléines ayant des propriétés antimalariques, telles que la primaquine.

Selon l'invention, le "bras" est de nature peptidique et il contient, de préférence, 4 aminoacides. Il est particulièrement important que l'acide aminé, lié à la fonction amine libre de la "drogue" par sa fonction carboxylique, comporte un carbone asymétrique et possède la configuration L car les peptidases ou les hydrolases lysosomiales ne coupent que les liaisons peptidiques en α d'un carbone asymétrique.

7

D'un intérêt tout particulier pour remplir cette fonction est la L-leucine. Par exemple, parmi les dérivés de la fonction amine des anthracyclines antitumorales, telles que la daunorubicine il a été montré que la N-L leucyl-daunorubicine est le produit qui, dans les conditions de la digestion lysosomiale libère la quantité la plus importante de daunorubicine. Ainsi après 2 heures d'hydrolyse à pH 6,0, la N-L leucyl-daunorubicine fournit 40 % de daunorubicine libre.

Si le bras entre la daunorubicine et le vecteur est une L-leucine, après 24 heures d'hydrolyse à pH 6,0 du produit vecteur-bras-drogue par des enzymes lysosomiaux purifiés, 15 % de la drogue va être libérée sous forme de daunorubicine libre. De plus, un taux de libération de la "drogue" libre beaucoup plus important est obtenu lorsque le nombre des aminoacides constituant le "bras" peptidique augmente et il peut atteindre 78 % lorsque le peptide intermédiaire est constitué par l'enchaînement de 4 aminoacides. Ainsi selon l'invention, le "bras" intermédiaire est de préférence représenté par l'enchaînement :

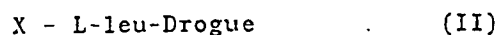


dans lequel L-Leu est lié par sa fonction carboxylique à la fonction amine de la drogue et X représente 1, 2 ou 3 aminoacides, identiques ou différents, choisis parmi la L-alanine, la glycine et la L-leucine.

D'un intérêt tout particulier sont les "bras" peptidiques L-ala-L-leu, L-ala-L-leu-L-ala-L-leu, (L-ala)₃-L-leu, L-ala-L-leu-gly-L-leu, gly-L-leu-gly-L-leu; parmi ceux-ci l'enchaînement (L-ala-L-leu)_n dans lequel n est égal à 1 ou 2 convient particulièrement bien.

Selon l'invention, le "vecteur" est une macromolécule qui peut être endocytée sélectivement par les cellules cibles. De préférence la macromolécule est une protéine dont la nature est liée à l'action recherchée de la "drogue". Par exemple, dans le cas des dérivés des anthracyclines antitumorales, la sérum albumine bovine (BSA), la fétuine ou l'immunoglobuline peuvent être avantageusement utilisées. Dans le cas des quinoléines antimalariques, il est particulièrement intéressant d'utiliser l'asialofétuine qui est un vecteur allant spécifiquement dans les hépatocytes où se trouvent les parasites.

Selon l'invention, les nouvelles formes pharmaceutiques peuvent être obtenues par action d'un produit de formule générale :



dans laquelle le terme "Drogué" et le symbole X sont définis comme précédemment sur une protéine dans les conditions habituellement utilisées pour créer une liaison peptidique entre la fonction amine libre de l'acide aminé terminal du

produit de formule générale (II) et les fonctions acides libres de la protéine.

Le "bras" peut également être accroché aux fonctions amines libres de la protéine après succinylation de la fonction amine libre de l'acide aminé terminal du produit de formule générale (II).

Généralement, la réaction s'effectue dans un milieu tamponné convenable tel qu'un milieu au tampon phosphate (Phosphate Buffer Saline ou PBS) en présence d'un agent de condensation tel qu'un carbodiimide comme l'éthyl-3-(diméthylaminopropyl)-carbodiimide à une température comprise entre 0 et 30°C. Il est particulièrement avantageux d'opérer en l'absence de lumière.

La nouvelle forme pharmaceutique selon l'invention est séparée du mélange réactionnel selon les méthodes physiques ou physicochimiques telles que la chromatographie sur un support approprié.

Le produit de formule générale (II) peut être obtenu par condensation d'un acide aminé convenable ou d'un peptide sous forme acide dont les fonctions amines sont protégées avec une drogue portant une fonction amine libre ou un dérivé de cette drogue portant une fonction amine libre en présence d'un agent de condensation selon les méthodes habituelles utilisées en chimie peptidique.

De préférence, on réalise d'abord la condensation de la L leucine dont la fonction amine est protégée sur la "drogue" puis la condensation successive des aminoacides destinés à constituer le bras sur la N-L-leucyl-"Droque".

Comme agent de condensation, on utilise plus particulièrement un carbodiimide dans un solvant organique tel que le diméthyl-formamide, le chlorure de méthylène ou l'acétonitrile. La fonction acide de l'acide peut aussi être activée sous forme d'ester avec le N-hydroxysuccinimide ou sous forme d'anhydride mixte.

Les groupements protecteurs des fonctions amines sont des groupements de type acyle (formyle) ou uréthane (benzyloxycarbonyl, tertibutyloxycarbonyl) ou arylalcoyle (trityle). Ces groupements peuvent ensuite être éliminés dans des conditions qui ne doivent pas détruire la liaison peptidique formée. Par exemple, lorsque la fonction amine est protégée par un radical trityle, ce groupement protecteur peut être éliminé par hydrolyse en milieu acide.

Les nouvelles formes pharmaceutiques selon l'invention sont particulièrement utiles pour permettre une action sélective dans le domaine d'activité de la drogue de base. L'action des nouveaux médicaments étant plus spécifique, le même effet sera obtenu avec quantité plus faible de drogue; par ailleurs, les effets secondaires néfastes pourront être fortement atténués sinon supprimés grâce à la moindre dissémination de la drogue en dehors des cellules cibles.

Les exemples suivants, donnés à titre non limitatif, montrent comment l'invention peut être mise en pratique.

Les nouveaux produits selon l'invention présentent des propriétés particulièrement intéressantes.

Ainsi les produits pour lesquels la drogue est la daunorubicine inhibent, in vitro, la croissance des cellules cancéreuses, telles que les cellules de la leucémie L1210 dans un milieu approprié. Par exemple, après 72 heures de culture, la BSA-succinyl-L-ala-L-leu-L-ala-L-leu-daunorubicine, à une concentration voisine de $10 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ provoque 90 % d'inhibition de la croissance des cellules de leucémie L1210.

Les produits selon l'invention pour lesquels la drogue est la primaquine provoquent, lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse à des doses comprises entre 10 et 30 mg/kg, à des souris infestées par Plasmodium berghei, une augmentation du temps de survie supérieure à 400 % par rapport aux témoins non traités.

EXEMPLE 1.

a) Préparation de la L alanyl-L leucyl - L alanyl - L leucyl - daunorubicine.

A une solution glacée de 1 g de daunorubicine ($1,77 \text{ mmol}$) dans 200 cm^3 de tampon borate à pH 10,2, agitée sous azote, on ajoute une solution de 320 mg de N-carboxyanhydride de L leucine ($2,04 \text{ mmol}$) dans 10 cm^3 d'acétone à -10°C .

Après 5 minutes d'agitation, le pH est amené à 3,5 par addition d'acide sulfurique 6 N puis, après 15 minutes, le mélange réactionnel est neutralisé par addition de soude 1 N. La solution est extraite par 150 cm³ de chlorure de méthylène. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium. Après filtration et concentration à sec sous pression réduite (20 mm de mercure) à une température inférieure 50°C, le produit est purifié par chromatographie sur 60 g de silice en éluant avec un mélange chloroforme-méthanol (95-5 en volumes). On obtient ainsi, après évaporation du solvant, 690 mg de N-L leucyl-daunorubicine qui, par addition de la quantité théorique d'acide chlorhydrique, fournit 715 mg de chlorhydrate de L leucyl-daunorubicine fondant à 201°C avec décomposition.

A une solution agitée de 677 mg de L leucyl-daunorubicine (1 mmole) dans 16 cm³ de diméthylformamide, on ajoute 498 mg de N-trityl-L alaninate de N-hydroxysuccinimide (2,12 mmoles) et 0,140 cm³ de triéthylamine. Le mélange réactionnel est agité pendant 24 heures à une température voisine de 20°C. Après évaporation du solvant, le résidu est dissous dans 10 cm³ d'un mélange chloroforme-méthanol (99-1 en volumes), puis filtré sur une colonne de 45 g de gel silice. On obtient, après évaporation du solvant, 450 mg de N-trityl L alanyl-L leucyl-daunorubicine. Ce produit est traité à froid par une solution d'acide acétique à 75 %, puis la solution est neutralisée par addition d'ammoniaque 12 N. Après extraction par le chloroforme,

séchage sur sulfate de sodium, filtration et évaporation du solvant, formation du chlorhydrate et filtration du triphényl-carbinol, on obtient 470 mg de chlorhydrate de L alanyl - L leucyl-daunorubicine fondant à 205°C avec décomposition.

On dissout 250 mg de chlorhydrate de L alanyl-L leucyl-daunorubicine dans 6 cm³ de diméthylformamide puis on ajoute 0,046 cm³ de triéthylamine et 166 mg de N-trityl L leucinate de N-hydroxysuccinimide. En opérant comme précédemment pour la préparation de la L alanyl - L leucyl-daunorubicine, on obtient 130 mg de chlorhydrate de L leucyl-L alanyl-L leucyl-daunorubicine fondant à 170°C avec décomposition.

On dissout 98 mg de chlorhydrate de L leucyl-L alanyl-L leucyl-daunorubicine dans 5 cm³ de diméthylformamide. On ajoute 0,016 cm³ de triéthylamine et 57 mg de N-trityl L alaninate de N-hydroxysuccinimide. En opérant comme précédemment pour la préparation de la L alanyl-L leucyl-daunorubicine, on obtient 65,5 mg de chlorhydrate de L alanyl-L leucyl - L alanyl- L leucyl-daunorubicine fondant à 217°C avec décomposition.

b) Couplage avec la sérum albumine bovine.

A 8 mg de chlorhydrate de L alanyl-L leucyl-L alanyl-L leucyl-daunorubicine en solution dans 2 cm³ d'eau distillée, on ajoute 100 mg de sérum albumine bovine en solution dans 3 cm³ de tampon phosphate (Phosphate Buffer Saline, PBS).

7

Le mélange est conservé pendant 15 heures à l'obscurité, à une température voisine de 20°C, puis la solution est filtrée sur une colonne de 150 cm³ de Biogel P-100 en éluant avec du tampon phosphate (Phosphate Buffer Saline, PBS).

La première fraction (14 cm³) qui correspond au produit couplé, est filtrée sur une colonne contenant 1 g de Parapak Q (Waters) afin d'éliminer les traces éventuelles de drogue fixée de façon non covalente. La solution est stérilisée par filtration sur filtre Millipore 0,2 µ et elle est conservée à 20°C.

On obtient ainsi une solution contenant 50 µg de drogue par cm³ et 3 mg de sérum albumine bovine par cm³.

EXEMPLE 2.

a) Succinylation de la N-L-alanyl-L-leucyl-L-alanyl-L-leucyl-daunorubicine.

On dissout 150 mg de chlorhydrate de N-L-alanyl-L-leucyl-L-alanyl-L-leucyl-daunorubicine (0,139 mmoles) dans 15 cm³ d'eau bidistillée.

On ajoute 2 fois 14 mg d'anhydride succinique (2 fois 0,14 mmoles) par petites fractions, tout en maintenant le pH à 7,5 par addition de soude 1 N.

A la fin de la réaction, le pH du mélange réactionnel est ajusté à 5,5 puis on extrait le produit formé par 3 fois 20 cm³ de chloroforme. La phase organique est lavée soigneusement 3 fois à l'eau bidistillée, puis séchée sur sulfate de sodium.

Après évaporation de la phase organique, on obtient 100 mg de poudre rouge (rendement 72 %) qui est mise en suspension dans 20 cm³ d'eau. On ajoute 1 cm³ d'une solution de soude 0,1 N. La solution ainsi obtenue est lyophilisée. On obtient ainsi 103 mg de sel de sodium de la succinyl-L-ala-L-leu-L-ala-L-leu-daunorubicine.

b) Couplage avec la sérum albumine bovine

On dissout 8,7 mg de succinyl-alanyl-leucyl-alanyl-leucyl-daunorubicine dans 2 ml d'eau bidistillée et on ajoute 100 mg de sérum albumine bovine dissoute dans 2 ml de PBS et 10 mg de carbodiimide soluble [1-éthyl-3-(3-diméthylamino-propyl)-carbodiimide, Pierce Chem., USA] dissous dans 1 ml de PBS. Le mélange est agité lentement à 4°C pendant 16 h à l'abri de la lumière puis la drogue couplée est séparée de la drogue libre par tamisage moléculaire sur une colonne de Biogel P-100 (Biorad Laboratories, USA). Le premier pic élué contient 12,6 µg drogue/ml et est récupéré dans un volume de 46 ml. Ce qui donne un rendement de couplage de 16,9 % et un rapport molaire drogue/protéine de 1,4 ml. La solution est filtrée sur Millipore 0,2 µ et conservée à 4°C.

9

EXEMPLE 3.

1. Préparation de la L leucyl-primaquine.

a) On agite pendant 24 heures un mélange de 600 mg de primaquine (2,321 mmoles) et de 1,5 g de fluorénylméthoxycarbonyl L leucinate de N-hydroxysuccinimide (3,36 mmoles) dans 15 cm³ de diméthylformamide. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie en couche mince. Lorsque la réaction est terminée le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur silicagel en éluant par des mélanges chloroforme-méthanol contenant progressivement de 1 à 10 % de méthanol et enfin par un mélange chloroforme-méthanol-ammoniacque concentrée (900-100-8 en volumes). L'éluat est récupéré en une série de fractions qui sont examinées en chromatographie de couche mince, par rapport à des étalons après détection dans l'ultra-violet.

L'élimination du groupement protecteur de la fonction amine de la L leucine est effectuée au moyen de pipéridine. Le précipité obtenu est séparé par filtration et le filtrat est neutralisé à pH 7 par une solution d'acide chlorhydrique N. La L leucyl-primaquine est extraite par du chloroforme (200 cm³). La phase organique est séchée sur sulfate de sodium. Après filtration et concentration sous pression réduite (20 mm de mercure), on obtient 647 mg de L leucyl-primaquine. A 647 mg de L leucyl-primaquine (1,74 mmoles), on ajoute 3,48 cm³ d'acide chlorhydrique 1 N. On obtient ainsi une solution de dichlorhydrate de L leucyl-primaquine.

9

b) A une solution de 7,68 g de primaquine (0,030 mole) dans 125 cm³ de chloroforme sec refroidie à 0°C on ajoute, goutte à goutte, 4,65 g de N-carboxyanhydride de L leucine (0,030 mole) dans 50 cm³ d'éther sec. La réaction est complète en 30 minutes. Après évaporation du solvant, le produit est purifié par chromatographie. On obtient ainsi 6,7 g de L leucyl-primaquine.

2. Préparation de la L alanyl-L leucyl-primaquine.

On agite un mélange de 4 g de L leucyl-primaquine (10,75 mmoles) et de 4,65 g de trityl L alaninate de N-hydroxy-succinimide dans 30 cm³ de diméthylformamide. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie en couche mince. Après évaporation du solvant sous pression réduite (20 mm de mercure), le produit est purifié par chromatographie sur silice en éluant par des mélanges chloroforme-méthanol contenant progressivement de 1 à 10 % de méthanol.

On obtient ainsi 5,21 g de N-trityl L alanyl-L leucyl-primaquine que l'on traite par 50 cm³ d'acide acétique à 75 %. Le précipité de triphényl-carbinol est séparé par filtration, puis le filtrat est neutralisé à froid par addition d'ammoniaque concentrée (50 cm³) jusqu'à pH 7. Après extraction du mélange réactionnel par le chloroforme, la phase organique est séchée sur sulfate de sodium. Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite (20 mm de mercure), on obtient 3,45 g de L alanyl-L leucyl-primaquine.

A 3,45 g de L alanyl- L leucyl-primaquine (7,78 mmoles), on ajoute 15,58 cm³ d'une solution d'acide chlorhydrique normal. On obtient ainsi une solution de dichlorhydrate de L alanyl-L leucyl-primaquine qui est lyophilisée.

3. Préparation d'asialofétuine- L alanyl-L leucyl-primaquine.

On dissout 332 mg d'asialofétuine ($7 \cdot 10^{-3}$ mmoles) dans 2,5 cm³ de tampon phosphate (Phosphate Buffer Saline) et on ajoute 50 mg de dichlorhydrate de L alanyl-L leucyl-primaquine et 50 mg de éthyl-1 (diméthylamino-3 propyl)-3 carbodiimide. On laisse en contact pendant 15 heures à l'abri de la lumière et à une température voisine de 20°C. Le mélange réactionnel est filtré sur une colonne de 125 cm³ de Biogel P-100. On recueille des fractions de 150 gouttes.

L'asialofétuine-L alanyl-L leucyl-primaquine est recueillie dans les fractions 6 à 12.

L'asialofétuine peut être préparée de la manière suivante :

Une solution de 1 g de fétuine (Sigma Chem., Etats-Unis) dans 10 cm³ de tampon acétate 0,2 M à pH 5,5 est passée, en circuit fermé, à travers une colonne de neuraminidase insolubilisée (Sigma Chem., Etats-Unis) maintenue à 45°C.

Après 48 heures, la solution d'asialofétuine est récupérée; le gel est lavé par du chlorure de sodium 2 M et l'acide sialique est éliminé par dialyse de la solution pendant 12 heures contre de l'eau distillée. L'asialofétuine est purifiée par passage sur une colonne de 125 cm³ de DEAE cellulose qui est éluée par du tampon Tris 0,01 M à pH 8. Des fractions de 150 gouttes sont recueillies à l'aide d'un collecteur de fraction Gilson. Les tubes contenant l'asialofétuine sont réunis et la solution est dialysée contre de l'eau puis lyophilisée.

La présente invention concerne également les compositions médicinales contenant les nouvelles formes pharmaceutiques selon l'invention seules ou en association avec un ou plusieurs diluants ou adjuvants compatibles. Ces compositions pourront être administrées par voie parentérale.

Les compositions selon l'invention pour administration parentérale peuvent être des solutions stériles aqueuses ou non aqueuses, des suspensions ou des émulsions. Comme solvant ou véhicule, on peut employer le propylène-glycol, un polyéthylène-glycol, des huiles végétales, en particulier l'huile d'olive, ou des esters organiques injectables, par exemple l'oléate d'éthyle. Ces compositions peuvent également comprendre des agents mouillants émulsifiants et dispersants. La stérilisation peut se faire de plusieurs façons, par exemple à l'aide d'un filtre bactériologique, en incorporant à la composition des agents stérilisants ou par irradiation. Elles peuvent être également préparées sous forme de compositions solides stériles qui peuvent être dissoutes au

7

moment de l'emploi dans de l'eau stérile ou tout autre milieu stérile injectable.

L'exemple suivant illustre une composition selon l'invention.

EXEMPLE.

On prépare selon la technique habituelle 100 cm³ d'une solution stérile contenant une quantité de BSA-succinyl-L-ala-L-leu-L-ala-L-leu-daunorubicine correspondant à 100 mg de daunorubicine libre. Cette solution est administrée en perfusion lente.

REVENDICATIONS

1. Une nouvelle forme pharmaceutique d'un médicament caractérisé en ce qu'elle est représentée schématiquement par :

Vecteur-bras-Drogue

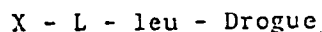
dans lequel

- "drogue" représente un principe actif qui contient une fonction amine libre
- "bras" est une chaîne de nature peptidique représentée par l'enchaînement

X - L Leu

dans lequel L Leu représente un reste L leucyl lié par sa fonction carboxylique à la fonction amine de la drogue et X représente 1, 2 ou 3 aminoacides, identiques ou différents, choisis parmi la L-alanine, la glycine ou la L leucine, dont une fonction amine terminale est éventuellement succinylée, et "vecteur" est une macromolécule de nature protéinique dont la nature est liée à l'action recherchée de la drogue.

2. Une nouvelle forme pharmaceutique selon la revendication 1 caractérisée en ce que la drogue est choisie parmi des anthracyclines antitumorales et des quinolécines antimalariques.
3. Nouvelle forme pharmaceutique selon la revendication 2 caractérisée en ce que la drogue est choisie parmi la daunorubicine et la primaquine.
4. Nouvelle forme pharmaceutique selon l'une des revendications 1 ou 2 caractérisée en ce que le bras contient l'enchaînement L-ala-L-leu, L-ala-L-leu-L-ala-L-leu, (L-ala)₃-L-leu, gly-L-leu-gly-L-leu, L-ala-L-leu-gly-L-leu.
5. Nouvelle forme pharmaceutique selon l'une des revendications 1, 2 ou 3 caractérisée en ce que le vecteur est choisi parmi la sérum albumine bovine, la fétuine, l'immunoglobuline ou l'asialofétuine.
6. Un procédé de préparation d'une nouvelle forme pharmaceutique selon la revendication 1 caractérisé en ce que l'on fait réagir un produit de formule générale :



dans laquelle "Drogue" et L Leu-X sont définis comme dans la revendication 1, sur une protéine dans les conditions appropriées pour créer une liaison peptidique entre la fonction

7

amine libre de l'acide aminé terminal du produit de formule générale X - L - leu - Drogue et les fonctions acides libres de la protéine, et isole le produit ainsi obtenu.

7. Un procédé de préparation d'une nouvelle forme pharmaceutique selon la revendication 1 caractérisé en ce que l'on fait réagir le produit de formule générale :

N-succinyl-X-L-leu-drogue

dans laquelle "drogue" et X-L-leu sont définis comme dans la revendication 1, obtenu par succinylation du produit de formule générale

X-L-leu-drogue

sur une protéine dans les conditions appropriées pour créer une liaison peptidique entre la fonction carboxyle libre du succinyl terminal du produit de formule générale

N-succinyl-X-L-leu-drogue

et les fonctions amines libres de la protéine, et isole le produit ainsi obtenu.

00541

8. Procédé de préparation d'une nouvelle forme pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 6 et 7, caractérisé en ce que la réaction s'effectue dans un milieu tamponné convenable tel qu'un milieu au tampon phosphate (Phosphate Buffer Saline) en présence d'un agent de condensation tel qu'un carbodiimide comme l'éthyl-1 (diméthyl-amino-3 propyl)-3 carbodiimide à une température comprise entre 0 et 30°C.
9. Procédé suivant la revendication 8, caractérisé en ce qu'on opère en l'absence de lumière.
10. A titre de moyen pour la mise en oeuvre du procédé selon la revendication 6, le produit de formule générale :
- X - L - leu - Drogue
- dans laquelle Drogue - L leu et X sont définis comme dans la revendication 1.
11. Produit suivant la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est obtenu par condensation d'un aminoacide convenable ou d'un peptide sous forme acide dont les fonctions amines sont protégées avec une drogue portant une fonction amine libre ou un dérivé de cette drogue portant une fonction amine libre en présence d'un agent de condensation selon les méthodes habituelles utilisées en chimie peptidique
- 4

12. Composition médicinale caractérisée en ce qu'elle est constituée par la nouvelle forme pharmaceutique selon la revendication 1, éventuellement en association avec un ou plusieurs diluants ou adjuvants compatibles.

Bruxelles le 31 MARS 1980

Ppon.: INSTITUT INTERNATIONAL DE
PATHOLOGIE CELLULAIRE ET
MOLECULAIRE

Ppon.: CABINET BEDE, R. van Schoonbeek

A. Hemblen